



MEDIO OGAWA KUDOH

USO PROPUESTO:

El medio de cultivo Ogawa Kudoh es un medio selectivo, utilizado para el aislamiento y cultivo de micobacterias a excepción de *M. leprae*.

PRESENTACIONES:

- Caja x 10 unidades de tubos de 20 x125 mm que contiene 8 ml de medio de cultivo Ogawa Kudoh, listos para uso.
- Caja x 20 unidades de tubos de 20 x125 mm que contiene 8 ml de medio de cultivo Ogawa Kudoh, listos para uso

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- Cámara de seguridad biológica.
- Escobillones estériles.
- Elementos de protección
- Hipoclorito de sodio (2.5%)
- Hidróxido de sodio al 4%.
- Incubadora
- Cepa ATCC-

METODOLOGÍA

PRINCIPIO DEL MÉTODO:

El medio de cultivo Ogawa Kudoh (OK) es utilizado para el aislamiento y cultivo de micobacterias, especialmente de *M. tuberculosis*, es el complemento de la baciloscopia, ya que permite la identificación de un mínimo de 10 BAAR en una muestra si se realiza el procedimiento de forma adecuada, convirtiéndolo en un método más sensible que además permite la identificación de sensibilidad y resistencia del microorganismo ante los medicamentos proporcionados en el tratamiento, y monitorear el éxito del mismo.

El medio es preparado en un buffer de fosfatos que posee como fuente de Carbono y Nitrógeno el glutamato de sodio y como fuente de energía el glicerol, además el medio posee albumina, que es un componente esencial para el crecimiento de las micobacterias.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO Y LIMITACIONES DEL MÉTODO:

- Es un medio en el que pueden crecer gran variedad de micobacterias tuberculosas y no tuberculosas, y es significativo identificar aquellas de importancia clínica.
- La sensibilidad del medio de cultivo se ve afectada por las técnicas de siembra utilizadas, por lo que es importante realizar los procedimientos de acuerdo a las técnicas ya estandarizadas.
- Las micobacterias son microorganismo de crecimiento lento por lo que el cultivo puede ser una técnica, de diagnóstico lento frente a nuevas técnicas de cultivo automatizadas, sin embargo estas últimas no reemplazan en su totalidad la utilidad del cultivo frente a la identificación y las pruebas de sensibilidad.
- Algunos cultivos pueden ser falsos negativos, esto se puede deber a que las muestras no cumplen con las características solicitadas tales como:
 - Recolección de saliva en lugar de esputo
 - Destrucción de los bacilos durante la digestión en muestras de aspirado gástrico.
 - Descontaminación no adecuada de la muestra
 - Condiciones de incubación inadecuadas.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS:

El medio se encuentra listo para ser usado.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE REACTIVOS:

El medio de cultivo debe ser conservado a una temperatura de 4-8°C, en su empaque original, evitando la exposición a la luz directa, no debe ser congelado con el fin de preservar el medio.

ESPÉCIMEN O MUESTRA:

Espudo y muestras extra pulmonares.

PROCEDIMIENTO:

El cultivo del medio OK puede realizarse por el método directo o por concentración por centrifugación, según el criterio del bacteriólogo, y la disponibilidad de materiales que posee el laboratorio.

MÉTODO DIRECTO O KUDOH:

1. Muestra de esputo adecuadamente obtenida en el recipiente adecuado
2. Si no trabaja en cámara estéril tipo II cubra el área de trabajo con papel impregnado de una solución de hipoclorito de sodio al 2.5%.
3. Identifique correctamente los tubos de medio que va a utilizar y coloque la fecha de siembra.
4. Trabajando a la llama de un mechero y usando las barreras de protección adecuadas, impregne un escobillón estéril con una capa delgada de la partícula útil de la muestra.
5. Introduzca el escobillón en un tubo que contenga 3 ml de NaOH al 4% deje en reposo durante 2 minutos para asegurar la descontaminación de la muestra.
6. Retire el escobillón sin escurrir y siembre sobre la superficie del medio mediante un movimiento de rotación y presión, use un escobillón para cada tubo, 2 tubos por muestra, y descarte el escobillón.



MEDIO OGAWA KUDOH

7. Incube los tubos en posición horizontal a 37°C y con las tapas sin ajustar.
8. Realice el control visual periódico de los cultivos, y observar si existe contaminación, si la siembra se encuentra absorbida cierre totalmente las tapas.
9. Continúe la incubación revisando en los días 2, 3 y 7 y una vez por semana durante las 8 semanas de incubación.
10. En caso de crecimiento realice coloración de ZN y realice las pruebas pertinentes de identificación.
11. Si al término de la semana 8 no hay crecimiento informe como negativo el cultivo.

MÉTODO DE CONCENTRACIÓN POR CENTRIFUGACIÓN

1. Muestra de esputo-lesión adecuadamente obtenida.
2. Descontaminar con fosfato trisodico al 10% en igual cantidad a la muestra por procesar por 2 horas y no más de 24 horas.
3. Centrifugar a 3000g por 30 minutos, descarte el sobrenadante, y homogenice el sedimento.
4. Descontamine con Hidróxido de Na al 4% y siembre según el método de Kudoh.

Nota: Para muestras extra-pulmonares estériles y no estériles favor remitirse a los protocolos de siembra establecidos por el INS o al manual de la OPS. (3,4)

CONTROL INTERNO DE CALIDAD:

En el control de calidad del medio se realiza durante todo el proceso de producción y posteriormente al producto final se le evalúan los aspectos macroscópicos como color, consistencia volumen y sensibilidad esta última utilizando la cepa de referencia *M. tuberculosis H37Rv* como control positivo.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

Utilizar el medio de cultivo antes de la fecha de expiración, presente en el rotulo del empaque.
Eliminar los elementos, desechables utilizados en el proceso, en guardián y bolsa roja según corresponda para su posterior incineración y desinfectar con hipoclorito de sodio las áreas utilizadas.

TECNOLOGÍA – EQUIPO UTILIZADO:

El medio de cultivo no requiere ningún equipo tecnológico para su uso, pero es soporte de identificación de los métodos automatizados actualmente utilizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Normatividad de reactivos de diagnóstico in vitro, decreto 3770 de 2004, decreto 4124 de 2008, Ministerio de Salud y Protección Social.
2. NCCLS. Quality control for commercially prepared microbiological culture media; approved estándar- Third edition. Vol 24 number 19 June 2004.
3. Bacteriología del *Mycobacterium tuberculosis* y de micobacterias no tuberculosis, manual de procedimientos, Instituto nacional de salud, Bogotá D.C. mayo del 2001.
4. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis, norma y guía técnica, Parte II cultivo, Organización Panamericana de la Salud 2008.